

梅毒螺旋体外膜蛋白功能及应用的研究进展

陈建宇¹ 刁陈薇² 王欢^{3*}

1. 杭州医学院, 检验医学院 浙江杭州 311399

2. 温州医科大学, 检验医学院和生命科学学院 浙江温州 325035

3. 浙江省人民医院(附属人民医院)检验中心, 杭州医学院 浙江杭州 310014

摘要: 梅毒是一种由梅毒螺旋体 (*Treponema pallidum*, TP) 感染引起的慢性多系统的性传播疾病, 近年来梅毒再次成为全球严重的公共卫生问题。梅毒螺旋体外膜缺乏内毒素, 也不产生明显的毒力因子, 其外膜蛋白在维持病原性和调节宿主免疫反应中起着关键作用, 有潜在的免疫诊断价值和较强疫苗研究作用。本文对已发现的重要梅毒螺旋体外膜蛋白的结构、生物学功能, 特别是致病机制和潜在诊断价值方面的研究进行了概述, 为梅毒防治以及公共卫生领域取得更显著的突破提供新的思路。

关键词: 梅毒螺旋体; 外膜蛋白; 致病机制; 疫苗; 研究进展

前言

梅毒是由梅毒螺旋体 (*Treponema pallidum*, TP) 引起的慢性多系统的性传播疾病。尽管临床上有简单有效的诊断检测和单剂量长效青霉素治疗, 但梅毒仍是一个全球的公共卫生问题, 尤其是在发展中国家^[1]。梅毒的致病机制涉及暴露、黏附/定植、侵袭/感染和播散等过程, 梅毒螺旋体外膜缺乏内毒素, 也不产生明显的毒力因子, 而外膜蛋白 (outer membrane protein, OMP) 是梅毒螺旋体不可或缺的组成部分, 在感染早期阶段, 它发挥着至关重要的粘附和侵袭作用^[2]。本文主要是对已发现的重要梅毒螺旋体外膜蛋白的功能及应用的研究进展进行系统性概述, 因此, 我们能够更深入地理解其致病机制, 不断优化梅毒的诊断方法, 并推动梅毒疫苗的研发进程。这些研究成果将为临床应用提供坚实的研究基础, 以支持更为科学和有效的诊断、治疗及预防方案的发展。

1 具有致病作用的 Tp 外膜蛋白研究进展

梅毒外膜蛋白致病作用主要有促炎反应, 促细胞凋亡和介导免疫逃逸等。

1.1 Tp0326 (Tp92)

Tp0326, 亦名 Tp92, 为 Tp 家族中独特存在的一种外膜蛋白, 与革兰氏阴性菌 OMP 具有序列同源性。其显著特点在于具备 BamA 二分拓扑结构, 此为其与其他外膜蛋白主要区别之处^[3]。Tp92 可能在梅毒早期感染中发挥作用,

可通过 NF- κ B 通路调控 THP-1 细胞分泌 IL-8, 从而产生炎症反应, 导致大量免疫细胞死亡。然而, 关于 Tp0326 诱导产生的 IL-8 是否能促进宿主天然免疫反应系统识别与清除 Tp, 仍需进行更深入的研究。罗茜^[4]的研究表明 Tp 0326 可通过单核细胞表面的 CD14 和 / 或 TLR2 诱导细胞发生由 pro-caspase-1 通路介导的非典型焦亡和 RIPK1/caspase-8/caspase-3 通路介导的凋亡。

1.2 Tp 0821

Tp 0821 是一种位于 Tp 外膜上的膜脂蛋白, 基因全长 807 bp, 可以编码 268 个氨基酸。研究显示, Tp 0821 具备潜在的促炎活性, 可通过 ERK1/2、p38 和 NF- κ B 途径, 促使 THP-1 细胞表达炎症促进细胞因子 IL-6、IL-8 和 IL-1 β , 这可能是 Tp 的重要致病机制^[5]。另有研究表明 Tp 0821 具备高免疫原性和高免疫反应性, 可与 Tp 阳性的血清发生反应^[6]。此外, 重组蛋白 Tp 0821 的延迟型超敏反应呈阳性, 表明其诱导了一种特异性的细胞免疫应答, 可被选为 Tp 的候选疫苗蛋白。研究还发现以 Tp 0821 制备的重组蛋白具有良好的免疫活性, 用其与 Tp0319, Tp 0971, Tp 0663 嵌合抗原建立的间接 Tp-ELISA 法进行梅毒螺旋体血清学诊断, 能提高 Tp 检测灵敏度^[7]。

1.3 Tp0435 (Tp17)

Tp0435, 亦名 Tp 17, 是一种分子量约为 17kDa 的膜脂蛋白, 约占 TP 可溶性蛋白的 10%, 呈现出八链反平行 β

桶状结构，其在还原态下呈现为单体形式，而在氧化态下则以二硫键连接的二聚体形式存在。此蛋白质可能在结合配体、构建膜结构或引发疾病过程中发挥作用^[8]。具有较强的免疫原性，含有丰富的B细胞抗原表位，其中多肽TP17-1所包含的抗原表位Thr27-Glu38和Lys34-Ala35在6个多肽中具有最佳抗原性，可应用于设计梅毒人工抗原，从而提高梅毒ELISA检测技术的特异性和灵敏度^[9]。据报道梅毒螺旋体多表位融合抗原，该融合抗原包含外膜蛋白Tp0453、Tp0435、Tp1038、Tp0868和Tp0965的重要抗原表位。通过利用多表位融合抗原对新西兰兔进行免疫实验，结果显示兔血清中可持续检测到高滴度的梅毒抗体，证实了该多表位融合抗原具有较强的免疫原性，可作为梅毒基因工程疫苗的候选蛋白。所以Tp0435在梅毒感染的血清学诊断中具有重要的价值^[10]。TChad^[11]等人的研究结果显示，Tp0435具备粘附特性，且可分化为多种亚型，其中一种能随机附着于Tp表面。非粘附性伯氏螺旋体菌株表达Tp0435时，同样具有粘附各类哺乳动物细胞的能力，并在体外被宿主细胞缓慢吞噬，这与宿主巨噬细胞对Tp的体外吞噬现象相似。这种现象可能与Tp在感染过程中产生的表面和周质免疫原性脂蛋白亚型有关，外膜蛋白能够调控B细胞和T细胞活性、影响吞噬细胞功能，进而促进梅毒螺旋体的免疫逃逸，但其作用机制、病原体与内皮细胞相互作用的具体位点及诱导产生免疫逃逸的确切机制目前仍不清楚。

1.4 Tp0126

Brandt^[12]等人研究发现Tp0126具有与OMP相同的β桶状结构，这有力地证明了Tp0126是一种假定的Tp表面抗原。同时还有研究发现Tp0126具备诱导炎症反应的能力，它能够刺激THP-1巨噬细胞样细胞产生炎症细胞因子TNF-α、IL-1β和IL-6。此过程受到NF-κB和p38MAPK信号通路的调控^[13]。圆二色谱分析结果进一步支持了Tp0126可能属于外膜蛋白的推测，然而，其在Tp菌体表面的定位以及其在Tp致病过程中的作用机制仍需深入研究。

1.5 Tp0965

Tp0965是一种位于Tp周质的膜融合蛋白，它具有较强的免疫原性和免疫反应性^[14-15]。前期研究发现，Tp0965具有降低紧密连接蛋白的表达、提升粘附分子表达和内皮细胞通透性的能力，同时还能改变肌动蛋白细胞骨架的形态，从而诱发内皮细胞活化。这会导致趋化因子分泌增加和细胞

对单核巨噬细胞的粘附增强，最终导致内皮屏障功能受损。三期梅毒的病变特点包括皮肤结节、主动脉炎症、主动脉瘤、牙龈肿胀和脑膜血管炎，其组织病理学主要表现为内皮屏障功能障碍和破坏^[16]。这些研究结果表明，Tp0965在晚期梅毒的发病机制中可能起着重要的作用，然而，Tp0965上调这些细胞因子表达的具体机制尚未明确。

2 具有诊断价值的Tp外膜蛋白的研究进展

目前，常见的梅毒实验室检测方法包括直接病原体检测、血清学检测和聚合酶链反应分析。其中，血清学检测常用于梅毒的临床筛查和诊断，主要包括特异性Tp抗体试验和非特异性Tp抗体试验。随着基因工程技术和Tp全基因组测序的快速发展，单独或联合使用四种重组蛋白（TpN47/TpN17/TpN15和TpmA）作为包膜抗原血清学检测方法虽然具有高灵敏度和高特异性的特点^[17]，但是这些完全天然的Tp抗原可以与其他螺旋体发生交叉反应而常常出现一些假阳性结果。因此，鉴定一些新的诊断性能高的Tp抗原对提高梅毒患病检出率具有重要意义。

2.1 Tp0663

黏膜蛋白Tp0663是一种28kDa的Tp外膜蛋白，具有表面暴露的表位，能在Tp感染机体后诱导THP-1细胞分泌IL-1β、TNF-α等前炎症细胞因子。Brinkman^[18]等人的研究发现Tp0663仅与一期梅毒患者的血清反应，但McGill等人运用免疫印迹并未发现其与人血清发生反应，所以其是否与人血清发生反应还有待考究。与其他OMPs一样，Tp0663展现出一种全新的血清诊断药物特性，为开发新型梅毒诊断方法提供了巨大的可能性^[19]。

2.2 Tp0693

Tp0693是一种假定蛋白，通过一系列生物学信息学分析，包括跨膜、信息肽和亚细胞分析等，被证实其为一种具有较强免疫原性的分泌蛋白，建立ELISA法，检测多份梅毒血清，交叉血清和阴性血清，并与TPPA、RPR法检测结果进行比较发现基于pET30a-Tp0693重组表达蛋白建立的Tp0693-ELISA具有高度特异性和较好的敏感性，Tp0693可望成为Tp候选诊断抗原^[20]。Bosshard PP^[21]及其团队的研究指出，在感染早期阶段，患者可能梅毒螺旋体颗粒凝集试验结果为阴性，但ELISA检测Tp-IgM亦可能阳性。Tp0693被认为是仅在活动性感染时分泌的蛋白，它可能对诊断活动性感染更有意义。在未来的研究中，将Tp0693与其他特异

性高的 Tp 抗原联合起来一同应用, 梅毒血清学检测试验的诊断效能可能会得到大大提高。

2.3 Tp0136

Tp0136 是一种暴露于 Tp 外膜蛋白的脂蛋白, 在 Tp0136 与不同宿主细胞系的结合水平上存在显著差异, 这突出了该蛋白在梅毒定植和梅毒发病机制中的重要性^[22]。Tp0136 的一个基本特征是, 由于不同菌株之间 Tp0136 编码基因的核苷酸错配、插入或缺失, 不同苍白球菌株之间存在高度的异质性^[23]。这一特征有助于区分梅毒的再感染^[24]。此外, Tp0136 显示出与纤维连接蛋白、微纤维连接蛋白和层粘连蛋白显著结合的能力^[25]。总之, Tp0136 在诊断原发性梅毒方面表现出极好的潜力。

3 具有疫苗潜力的 Tp 外膜蛋白的研究进展

近年来, 梅毒在世界范围内的死灰复燃引起了全世界的广泛关注, 既往所采用的流行病学方法并没有达到减少梅毒传播的目的^[26], 因此, 疫苗研制对防控梅毒感染与传播具有重要意义。

3.1 Tp0751

Tp0751 是一种双功能的 Tp 外膜蛋白, 其一, 它可以特异性与层粘连蛋白(基底膜的重要组成部分)和纤维蛋白原特异性结合; 其二, Tp0751 也表现出金属蛋白酶活性^[27]。Tp 因其极强的侵袭力能在感染宿主后能通过脉管系统进行广泛快速传播^[28]。Tp0751 与宿主环境直接相互作用的血管粘附素, 能与纤维蛋白原、层粘连蛋白等多种细胞外基质成分结合, 与 Tp 的快速传播密切相关^[29]。研究调查显示 Tp0751 可能通过诱导宿主产生免疫保护性抗体从而发挥免疫保护作用, 可能为 Tp 潜在的疫苗候选物^[30]。

3.2 TprK

TprK 是一种具有较强免疫原性的 Tp 特异性蛋白。它在 Tpr 蛋白家族中具有较强烈的细胞免疫应答靶点, 对苍白球疫苗的研究具有重要意义^[31]。TprK 的 V 区具有特定的氨基酸序列, 其编码的蛋白是在不同毒株之间获得免疫保护的潜在疫苗成分^[32]。TprK 也表现出极端的抗原变异性^[33]。TprK 基因的 7 个可变区包含多个复杂等位基因, 其中 V6 区基因转化发生率最高, 通过抗原变异在苍白球免疫逃逸中起着核心作用^[34]。

4 结论与展望

外膜蛋白作为梅毒螺旋体的重要组成部分, 在其早期

感染的黏附和侵袭中起着至关重要的作用。尽管研究梅毒螺旋体的致病机制还存在很多困难, 但近年来, 梅毒螺旋体外膜蛋白的相继发现为阐明该菌隐性致病性的结构、生理和调节等方面开辟了新途径。随着对 Tp 外膜蛋白研究的深入, 发现梅毒外膜蛋白的特性, 揭示了它们在分子运输、信号转导和细胞黏附中的独特作用机制。其中, 部分外膜蛋白能够调控 B 细胞和 T 细胞活性、影响吞噬细胞功能, 进而促进梅毒螺旋体的免疫逃逸。此外, 外膜蛋白的开发用于预防和诊断梅毒的应用中显得尤为关键, 亚单位疫苗候选物的设计、多价疫苗的构建以及免疫原性评估模型的建立对疫苗研发具有指导意义。在快速诊断技术方面, 免疫层析试纸条、ELISA 均展示出高灵敏度和特异性, 为临床实现梅毒的早期检测和快速筛查提供了可能。总结现有研究, 文中指出外膜蛋白研究仍面临着挑战, 如疫苗效力增强策略的缺乏、新型快速诊断技术的开发需求以及外膜蛋白功能进一步深入解析的迫切性。未来研究应聚焦于这些难点, 以期在梅毒防治以及公共卫生领域取得更显著的突破。

参考文献:

- [1]Rosanna W Peeling, David Mabey, Mary L Kamb, et al. Syphilis[J]. Nat Rev Dis Primers. 2017,3:17073.
- [2]Jinlin Chen, Jielite Huang, Zhuoran Liu, et al. Treponema pallidum outer membrane proteins: current status and prospects[J]. Pathog Dis. 2022, 80(1):ftac023.
- [3]Justin D Radolf, Sanjiv Kumar. The Treponema pallidum Outer Membrane[J]. Curr Top Microbiol Immunol. 2018,415:1-38.
- [4]Xi Luo, Xiaohong Zhang, Lin Gan, et al. The outer membrane protein Tp92 of Treponema pallidum induces human mononuclear cell death and IL-8 secretion[J]. 2018,22(12):6039-6054.
- [5]Xie Y, Xu M, Wang C, et al. Diagnostic value of recombinant Tp0821 protein in serodiagnosis for syphilis[J]. Lett Appl Microbiol. 2016,62(4):336-343.
- [6]Ning Wu, Ni Li, Liping Hu, et al. Immunogenicity and immunoreactivity of Tp0821 recombinant protein from Treponema pallidum[J]. Mol Med Rep. 2017,16(1):851-856.
- [7] 阳建, 杨荣志, 唐诚. 梅毒螺旋体四种不同膜蛋白在血清学诊断中的应用研究 [J]. 临床和实验医学杂志, 2015, 14(06): 457-460.

- [8] Kamfai Chan, Thayer Nasereddin, Laura Alter, et al. *Treponema pallidum* Lipoprotein TP0435 Expressed in *Borrelia burgdorferi* Produces Multiple Surface/Periplasmic Isoforms and mediates Adherence[J]. *Sci Rep*. 2016, 10:6:25593.
- [9] Karolin Pollok, Ronja Mothes, Carolin Ulbricht, et al. The chronically inflamed central nervous system provides niches for long-lived plasma cells. *Acta Neuropathol Commun*[J]. 2017,5(1):88.
- [10] Shun Xiong, Zhaoping Liu, Xiaohong Zhang, et al. Resurgence of syphilis: focusing on emerging clinical strategies and preclinical models[J]. *J Transl Med*. 2023,21(1):917.
- [11] Chad A Brautigam, Ranjit K Deka, Wei Z Liu, et al. Insights into the potential function and membrane organization of the TP0435 (Tp17) lipoprotein from *Treponema pallidum* derived from structural and biophysical analyses[J]. *Protein Sci*. 2015,24(1):11–9.
- [12] Lorenzo Giacani, Stephanie L Brandt, Wujian Ke, et al. Transcription of TP0126, *Treponema pallidum* putative *OmpW* homolog, is regulated by the length of a homopolymeric guanosine repeat[J]. *Infect Immun*. 2015,83(6):2275–2289.
- [13] Austin M Haynes, Charmie Godornes, Wujian Ke, et al. Evaluation of the Protective Ability of the *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* Tp0126 *OmpW* Homolog in the Rabbit Model of Syphilis[J]. *Infect Immun*. 2019,87(8):e00323–19.
- [14] Rui-Li Zhang, Qian-Qiu Wang, Li-Jia Yang. Chemerin induced by *Treponema pallidum* predicted membrane protein Tp0965 mediates the activation of endothelial cell via MAPK signaling pathway[J]. *J Cell Biochem*. 2019,20(12):19621–19634.
- [15] Matthew McKeivitt, Mary Beth Brinkman, Melanie McLoughlin, et al. Genome scale identification of *Treponema pallidum* antigens[J]. *Infect Immun*. 2005,73(7):4445–4450.
- [16] Rui-Li Zhang, Jing-Ping Zhang, Qian-Qiu Wang. Recombinant *Treponema pallidum* protein Tp0965 activates endothelial cells and increases the permeability of endothelial cell monolayer[J]. *PLoS One*. 2014,9(12):e115134.
- [17] A V Runina, G L Katunin, M A Filippova, et al. Immunochip for Syphilis Serodiagnostics with the Use of Extended Array of *Treponema pallidum* Recombinant Antigens. *Bull Exp Biol Med*[J]. 2018,165(6):767–771.
- [18] Mary Beth Brinkman, Matthew McKeivitt, Melanie McLoughlin, et al. Reactivity of antibodies from syphilis patients to a protein array representing the *Treponema pallidum* proteome[J]. *J Clin Microbiol*[J]. 2006,44(3):888–891.
- [19] Man Xu, Yafeng Xie, Chuanhao Jiang, et al. A novel ELISA using a recombinant outer membrane protein, rTp0663, as the antigen for serological diagnosis of syphilis[J]. *Int J Infect Dis*. 2016, 43:51–57.
- [20] Li Zhang, Meixia Deng, Xiaohong Zhang, et al. Serological evaluation of antigen Tp0693 for diagnosis of syphilis[J]. *Exp Ther Med*. 2017,14(5):4729–4736.
- [21] Philipp P Bosshard. Usefulness of IgM-specific enzyme immunoassays for serodiagnosis of syphilis: comparative evaluation of three different assays. *Comparative Study*[J]. *J Infect*. 2013,67(1):35–42.
- [22] Vitomir Djokic, Lorenzo Giacani, Nikhat Parveen. Analysis of host cell binding specificity mediated by the Tp0136 adhesin of the syphilis agent *Treponema pallidum* subsp. *pallidum*. *PLoS Negl Trop Dis*[J]. 2019,13(5):e0007401.
- [23] Caroline E Cameron, Elizabeth L Brown, Janelle M Y Kuroiwa, et al. *Treponema pallidum* fibronectin-binding proteins[J]. *J Bacteriol*. 2004,186(20):7019–7022.
- [24] Wujian Ke, Barbara J Molini, Sheila A Lukehart, et al. *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* TP0136 protein is heterogeneous among isolates and binds cellular and plasma fibronectin via its NH₂-terminal end[J]. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015,9(3):e0003662.
- [25] Mary Beth Brinkman, Melanie A McGill, Jonas Pettersson, et al. A novel *Treponema pallidum* antigen, TP0136, is an outer membrane protein that binds human fibronectin[J]. *Infect Immun*. 2008,76(5):1848–1857.
- [26] Caroline E Cameron. Syphilis Vaccine Development: Requirements, Challenges, and Opportunities[J]. *Sex Transm Dis*. 2018,45(9S Suppl 1):S17–S19.
- [27] Simon Houston, Rebecca Hof, Teresa Francescutti, et al. Bifunctional role of the *Treponema pallidum* extracellular matrix binding adhesin Tp0751[J]. *Infect Immun*. 2011,9(3):1386–1398.

[28]Simon Houston, Rebecca Hof, Lisa Honeyman, et al. Activation and proteolytic activity of the *Treponema pallidum* metalloprotease, pallilysin[J]. *PLoS Pathog.* 2012;8(7):e1002822.

[29]Michelle L Parker, Simon Houston, Helena Pětrošová, et al. The Structure of *Treponema pallidum* Tp0751 (Pallilysin) Reveals a Non-canonical Lipocalin Fold That Mediates Adhesion to Extracellular Matrix Components and Interactions with Host Cells[J]. *PLoS Pathog.* 2016,12(9):e1005919.

[30]Karen V Lithgow, Rebecca Hof, Charmaine Wetherell, et al. A defined syphilis vaccine candidate inhibits dissemination of *Treponema pallidum* subspecies *pallidum*[J]. *Nat Commun.* 2017,8:14273.

[31]Nikhath Parveen, Mark C Fernandez, Austin M Haynes, et al. Non-pathogenic *Borrelia burgdorferi* expressing *Treponema pallidum* TprK and Tp0435 antigens as a novel approach to evaluate syphilis vaccine candidates[J]. *Vaccine.* 2019,37(13):1807-1818.

[32]Dan Liu, Man-Li Tong, Xi Luo, et al. Profile of the

tprK gene in primary syphilis patients based on next-generation sequencing[J]. *PLoS Negl Trop Dis.* 2019,13(2):e0006855.

[33]Rebecca E LaFond, Barbara J Molini, Wesley C Van Voorhis, et al. Antigenic variation of TprK V regions abrogates specific antibody binding in syphilis[J]. *Infect Immun.* 2006,74(11):6244-6251.

[34]Tara B Reid, Barbara J Molini, Mark C Fernandez, et al. Antigenic variation of TprK facilitates development of secondary syphilis[J]. *Infect Immun.* 2014,82(12):4959-4967.

作者简介：

陈建宇（2004—），男，汉族，浙江温州，本科，杭州医学院，职称：无，研究方向：感染与免疫。

通讯作者：王欢（1981—），副主任医师，医学博士，研究方向：感染与免疫机制研究。

基金项目：

浙江省自然科学基金项目（No.LY20H190003）、浙江省医药卫生科技计划项目（No.2023KY015）和浙江省中医药科技计划（No. 2024ZL254）。